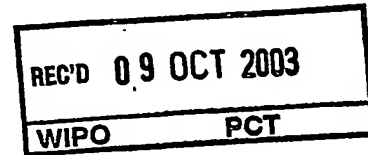


BUNDESREPUBLIK DEUTSCHLAND**Prioritätsbescheinigung über die Einreichung
einer Patentanmeldung**

Aktenzeichen: 102 38 723.0
Anmeldetag: 23. August 2002
Anmelder/Inhaber: BAYER AKTIENGESELLSCHAFT,
Leverkusen/DE
Bezeichnung: Phenyl-substituierte Pyrazolpyrimidine
IPC: C 07 D 487/04

Die angehefteten Stücke sind eine richtige und genaue Wiedergabe der ursprünglichen Unterlagen dieser Patentanmeldung.

München, den 05. Juni 2003
Deutsches Patent- und Markenamt
Der Präsident
Im Auftrag

**PRIORITY
DOCUMENT**
SUBMITTED OR TRANSMITTED IN
COMPLIANCE WITH RULE 17.1(a) OR (b)

Wehmayr

Phenyl-substituierte Pyrazolpyrimidine

Die Erfindung betrifft neue Phenyl-substituierte Pyrazolpyrimidine, Verfahren zu
5 ihrer Herstellung, und ihre Verwendung zur Herstellung von Arzneimitteln zur Verbesserung von Wahrnehmung, Konzentrationsleistung, Lern- und/oder Gedächtnisleistung.

Die zelluläre Aktivierung von Adenylat- bzw. Guanylatzyklasen bewirkt die Zyklisierung von ATP bzw. GTP zu 5'-3' zyklischem Adenosin Monophosphat (cAMP)
10 bzw. 5'-3' zyklischem Guanosin monophosphat (cGMP). Diese zyklischen Nukleotide (cAMP und cGMP) sind wichtige second messenger und spielen daher eine zentrale Rolle in den zellulären Signaltransduktionskaskaden. Beide aktivieren unter anderem, aber nicht ausschließlich, jeweils wieder Protein Kinasen. Die von cAMP
15 aktivierte Protein Kinase wird Protein Kinase A (PKA) genannt, die von cGMP aktivierte Protein Kinase wird Protein Kinase G (PKG) genannt. Aktivierte PKA bzw. PKG können wiederum eine Reihe zellulärer Effektorproteine phosphorylieren (z.B. Ionenkanäle, G-Protein gekoppelte Rezeptoren, Strukturproteine). Auf diese Weise können die second messengers cAMP und cGMP die unterschiedlichsten physiologischen
20 Vorgänge in den verschiedensten Organen kontrollieren. Die zyklischen Nukleotide können aber auch direkt auf Effektormoleküle wirken. So ist z.B. bekannt, dass cGMP direkt auf Ionenkanäle wirken kann und hiermit die zelluläre Ionenkonzentration beeinflussen kann (Übersicht in: Wei et al., *Prog. Neurobiol.*,
1998, 56: 37 – 64). Ein Kontrollmechanismus, um die Aktivität von cAMP und
25 cGMP und damit diese physiologischen Vorgänge wiederum zu steuern, sind die Phosphodiesterasen (PDE). PDEs hydrolysieren die zyklischen Monophosphate zu den inaktiven Monophosphaten AMP und GMP. Es sind mittlerweile mindestens 21 PDE Gene beschrieben (*Exp. Opin. Investig. Drugs* 2000, 9, 1354-3784). Diese 21 PDE Gene lassen sich aufgrund ihrer Sequenzhomologie in 11 PDE Familien einteilen
30 (Nomenklatur Vorschlag siehe <http://depts.washington.edu/pde/Nomenclature.html>). Einzelne PDE Gene innerhalb

einer Familie werden durch Buchstaben unterschieden (z.B. PDE1A und PDE1B). Falls noch unterschiedliche Splice Varianten innerhalb eines Genes vorkommen, wird dies dann durch eine zusätzliche Nummerierung nach dem Buchstaben angegeben (z.B. PDE1A1).

5

Die Humane PDE9A wurde 1998 kloniert und sequenziert. Die Aminosäurenidentität zu anderen PDEs liegt bei maximal 34 % (PDE8A) und minimal 28 % (PDE5A). Mit einer Michaelis-Menten-Konstante (Km-Wert) von 170 nM ist PDE9A hochaffin für cGMP. Darüber hinaus ist PDE9A selektiv für cGMP (Km-Wert für cAMP = 230 μ M). PDE9A weist keine cGMP Bindungsdomäne auf, die auf eine allosterische Enzymregulation durch cGMP schließen ließe. In einer Western Blot Analyse wurde gezeigt, daß die PDE9A im Mensch in Hoden, Gehirn, Dünndarm, Skelettmuskulatur, Herz, Lunge, Thymus und Milz exprimiert wird. Die höchste Expression wurde in Gehirn, Dünndarm, Herz und Milz gefunden (Fisher et al., *J. Biol. Chem.*, 1998, 273 (25): 15559 – 15564). Das Gen für die humane PDE9A liegt auf Chromosom 21q22.3 und enthält 21 Exons. Bislang wurden 4 alternative Spleißvarianten der PDE9A identifiziert (Guipponi et al., *Hum. Genet.*, 1998, 103: 386 – 392). Klassische PDE Inhibitoren hemmen die humane PDE9A nicht. So zeigen IBMX, Dipyridamole, SKF94120, Rolipram und Vinpocetin in Konzentrationen bis 100 μ M keine Inhibition am isolierten Enzym. Für Zaprinast wurde ein IC₅₀-Wert von 35 μ M nachgewiesen (Fisher et al., *J. Biol. Chem.*, 1998, 273 (25): 15559 – 15564).

20

Die Maus PDE9A wurde 1998 von Soderling et al. (*J. Biol. Chem.*, 1998, 273 (19): 15553 – 15558) kloniert und sequenziert. Diese ist wie die humane Form hochaffin für cGMP mit einem Km von 70 nM. In der Maus wurde eine besonders hohe Expression in der Niere, Gehirn, Lunge und Herz gefunden. Auch die Maus PDE9A wird von IBMX in Konzentrationen unter 200 μ M nicht gehemmt; der IC₅₀-Wert für Zaprinast liegt bei 29 μ M (Soderling et al., *J. Biol. Chem.*, 1998, 273 (19): 15553 – 15558). Im Rattengehirn wurde gezeigt, daß PDE9A in einigen Hirnregionen stark exprimiert wird. Dazu zählen der Bulbus olfactorius, Hippocampus, Cortex, Basalganglien und basales Vorderhirn (Andreeva et al., *J. Neurosci.*, 2001, 21 (22): 9068 –

25

30

9076). Insbesondere Hippokampus, Cortex und basales Vorderhirn spielen eine wichtige Rolle an Lern- und Gedächtnisvorgängen.

Wie oben bereits erwähnt, zeichnet sich PDE9A durch eine besonders hohe Affinität für cGMP aus. Deshalb ist PDE9A im Gegensatz zu PDE2A ($K_m = 10 \mu\text{M}$; Martins et al., *J. Biol. Chem.*, 1982, 257: 1973 - 1979), PDE5A ($K_m = 4 \mu\text{M}$; Francis et al., *J. Biol. Chem.*, 1980, 255: 620 - 626), PDE6A ($K_m = 17 \mu\text{M}$; Gillespie and Beavo, *J. Biol. Chem.*, 1988, 263 (17): 8133 - 8141) und PDE11A ($K_m = 0,52 \mu\text{M}$; Fawcett et al., *Proc. Nat. Acad. Sci.*, 2000, 97 (7): 3702 - 3707) schon bei niedrigen physiologischen Konzentrationen aktiv. Im Gegensatz zu PDE2A (Murashima et al., *Biochemistry*, 1990, 29: 5285 - 5292) wird die katalytische Aktivität von PDE9A nicht durch cGMP gesteigert, da es keine GAF Domäne (cGMP Bindedomäne, über die die PDE Aktivität allosterisch gesteigert wird) aufweist (Beavo et al., *Current Opinion in Cell Biology*, 2000, 12: 174 - 179). PDE9A Inhibitoren führen deshalb zu einer Erhöhung der basalen cGMP Konzentration. Diese Erhöhung der basalen cGMP Konzentration führte überraschenderweise zu einer Verbesserung der Lern- und Gedächtnisleistung im Social Recognition Test.

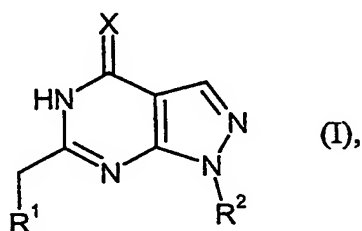
Die WO 98/40384 offenbart Pyrazolopyrimidine, die sich als PDE1-, 2- und 5-Inhibitoren auszeichnen und für die Behandlung von cardiovascularen, cerebrovascularen Erkrankungen sowie Erkrankungen des Urogenitalbereiches eingesetzt werden können.

In CH 396 924, CH 396 925, CH 396 926, CH 396 927, DE 1 147 234, DE 1 149 013, GB 937,726 werden Pyrazolopyrimidine mit coronarerweiternder Wirkung beschrieben, die zur Behandlung von Durchblutungsstörungen des Herzmuskels eingesetzt werden können.

Im US 3,732,225 werden Pyrazolopyrimidine beschrieben, die eine entzündungshemmende und Blutzucker-senkende Wirkung haben.

In DE 2 408 906 werden Styrolpyrazolpyrimidine beschrieben, die als antimikrobielle und entzündungshemmende Mittel für die Behandlung von beispielsweise Ödem eingesetzt werden können.

5 Die vorliegende Erfindung betrifft Verbindungen der Formel



in welcher

10 R¹ Phenyl, welches mit 1 bis 5 Substituenten unabhängig voneinander ausgewählt aus der Gruppe Halogen, C₁-C₆-Alkyl, Trifluormethyl, Trifluormethoxy, Cyano, Hydroxy, Nitro und C₁-C₆-Alkoxy substituiert ist,

R² Pentan-3-yl, C₄-C₆-Cycloalkyl,

15

X Sauerstoff oder Schwefel,

bedeuten,

20 sowie deren Salze, Solvate und/oder Solvate der Salze.

Die erfindungsgemäßen Verbindungen können in Abhängigkeit von ihrer Struktur in stereoisomeren Formen (Enantiomere, Diastereomere) existieren. Die Erfindung be-
trifft deshalb die Enantiomeren oder Diastereomeren und ihre jeweiligen Mischun-
gen. Aus solchen Mischungen von Enantiomeren und/oder Diastereomeren lassen
25 sich die stereoisomer einheitlichen Bestandteile in bekannter Weise isolieren.

Als Salze sind im Rahmen der Erfindung physiologisch unbedenkliche Salze der erfindungsgemäßen Verbindungen bevorzugt.

5 Physiologisch unbedenkliche Salze der Verbindungen (I) umfassen Säureadditionssalze von Mineralsäuren, Carbonsäuren und Sulfonsäuren, z.B. Salze der Chlorwasserstoffsäure, Bromwasserstoffsäure, Schwefelsäure, Phosphorsäure, Methansulfonsäure, Ethansulfonsäure, Toluolsulfonsäure, Benzolsulfonsäure, Naphthalindisulfonsäure, Essigsäure, Propionsäure, Milchsäure, Weinsäure, Äpfelsäure, Zitronensäure, Fumarsäure, Maleinsäure und Benzoessäure.

10 Physiologisch unbedenkliche Salze der Verbindungen (I) umfassen auch Salze üblicher Basen, wie beispielhaft und vorzugsweise Alkalimetallsalze (z.B. Natrium- und Kaliumsalze), Erdalkalisalze (z.B. Calcium- und Magnesiumsalze) und Ammoniumsalze, abgeleitet von Ammoniak oder organischen Aminen mit 1 bis 16 C-Atomen,
15 wie beispielhaft und vorzugsweise Ethylamin, Diethylamin, Triethylamin, Ethyldiisopropylamin, Monoethanolamin, Diethanolamin, Triethanolamin, Dicyclohexylamin, Dimethylaminoethanol, Prokain, Dibenzylamin, N-Methylmorpholin, Dehydroabietylamin, Arginin, Lysin, Ethylendiamin und Methylpiperidin.

20 Als Solvate werden im Rahmen der Erfindung solche Formen der Verbindungen bezeichnet, welche in festem oder flüssigem Zustand durch Koordination mit Lösungsmittelmolekülen einen Komplex bilden. Hydrate sind eine spezielle Form der Solvate, bei denen die Koordination mit Wasser erfolgt.

25 Im Rahmen der vorliegenden Erfindung haben die Substituenten, soweit nicht anders spezifiziert, die folgende Bedeutung:

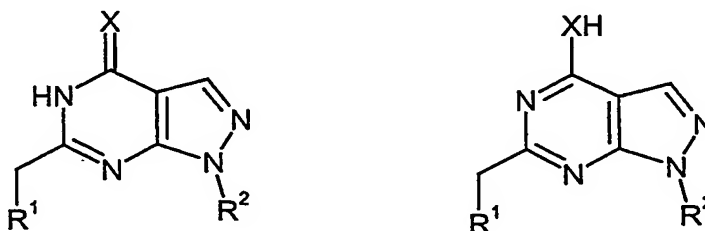
30 C₁-C₆-Alkoxy steht für einen geradkettigen oder verzweigten Alkoxyrest mit 1 bis 6, bevorzugt 1 bis 4, besonders bevorzugt mit 1 bis 3 Kohlenstoffatomen. Nicht-limitierende Beispiele umfassen Methoxy, Ethoxy, n-Propoxy, Isopropoxy, tert.-Butoxy, n-Pentoxy und n-Hexoxy.

C₁-C₆-Alkyl steht für einen geradkettigen oder verzweigten Alkylrest mit 1 bis 6, bevorzugt 1 bis 4, besonders bevorzugt 1 bis 3 Kohlenstoffatomen. Nicht-limitierende Beispiele umfassen Methyl, Ethyl, n-Propyl, Isopropyl, tert.-Butyl, n-Pentyl und n-Hexyl.

Halogen steht für Fluor, Chlor, Brom und Iod. Bevorzugt sind Fluor, Chlor, Brom, besonders bevorzugt Fluor und Chlor.

Wenn Reste in den erfindungsgemäßen Verbindungen gegebenenfalls substituiert sind, ist, soweit nicht anders spezifiziert, eine Substitution mit bis zu drei gleichen oder verschiedenen Substituenten bevorzugt.

Die erfindungsgemäßen Verbindungen können auch als Tautomere vorliegen, wie im Folgenden beispielhaft gezeigt wird:



Eine weitere Ausführungsform der Erfindung betrifft Verbindungen der Formel (I), in welcher

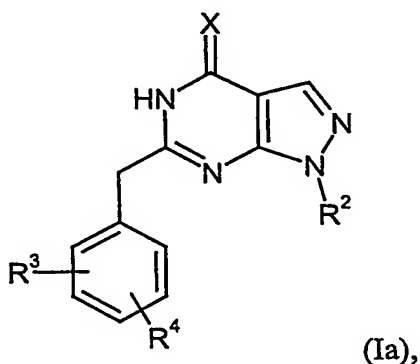
R¹ Phenyl, welches mit 1 bis 3 Substituenten unabhängig voneinander ausgewählt aus der Gruppe Fluor, Chlor, Brom, C₁-C₄-Alkyl, Trifluormethyl, Trifluormethoxy, Cyano, Hydroxy, Nitro und C₁-C₄-Alkoxy substituiert ist,

R² Pentan-3-yl, C₅-C₆-Cycloalkyl,

X Sauerstoff oder Schwefel,

bedeuten, sowie deren Salze, Solvate und/oder Solvate der Salze.

5 Eine weitere Ausführungsform der Erfindung betrifft Verbindungen der Formel



in welcher

10 R³ Wasserstoff oder Chlor,

R⁴ Fluor, Chlor, Brom, Methyl, Trifluormethyl,

R² Pentan-3-yl, Cyclopentyl,

15

X Sauerstoff oder Schwefel,

bedeuten, sowie deren Salze, Solvate und/oder Solvate der Salze.

20 Eine weitere Ausführungsform der Erfindung betrifft Verbindungen der Formeln (I) und (Ia),

in welcher

25 R³ Wasserstoff oder Chlor,

R^4 Fluor, Chlor, Brom, Methyl, Trifluormethyl,

R^2 Pentan-3-yl, Cyclopentyl,

5

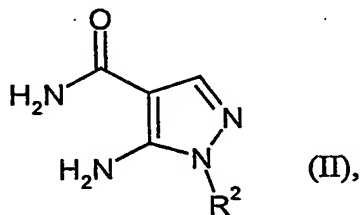
X Sauerstoff,

bedeuten, sowie deren Salze, Solvate und/oder Solvate der Salze.

10

Außerdem wurde ein Verfahren zur Herstellung der erfindungsgemäßen Verbindungen der Formel (I) gefunden, dadurch gekennzeichnet, dass man entweder

[A] Verbindungen der Formel



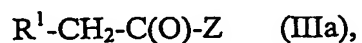
15

in welcher

R^2 die oben angegebenen Bedeutungen hat,

20

durch Umsetzung mit einer Verbindung der Formel



25

in welcher

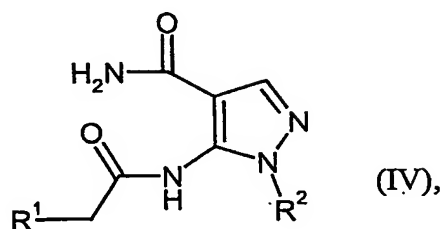
R^1 die oben angegebenen Bedeutungen hat

und

Z für Chlor oder Brom steht,

5

in einem inerten Lösemittel und in Anwesenheit einer Base zunächst in Verbindungen der Formel



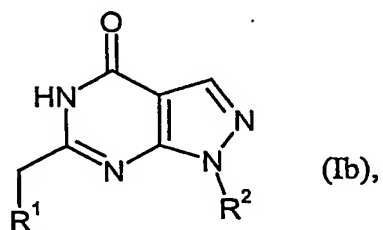
10

in welcher

R^1 und R^2 die oben angegebenen Bedeutungen haben,

15

überführt, dann in einem inerten Lösemittel in Gegenwart einer Base zu Verbindungen der Formel



20

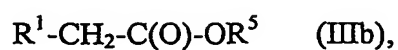
in welcher

R^1 und R^2 die oben angegebenen Bedeutungen haben,

cyclisiert,

oder

- 5 [B] Verbindungen der Formel (II) unter direkter Cyclisierung zu (Ib) mit einer Verbindung der Formel



10 in welcher

R^1 die oben angegebenen Bedeutungen hat

und

15

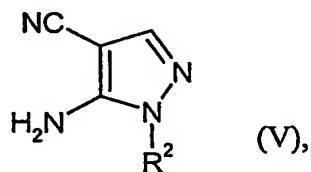
R^5 für Methyl oder Ethyl steht,

in einem inerten Lösemittel und in Anwesenheit einer Base umgesetzt,

20

oder

- [C] Verbindungen der Formel



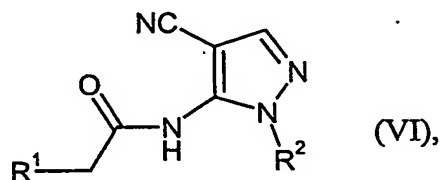
25

in welcher

R^2 die oben angegebenen Bedeutungen hat,

zunächst durch Umsetzung mit einer Verbindung der Formel (IIIa) in einem inerten Lösemittel und in Anwesenheit einer Base in Verbindungen der Formel

5



in welcher

10

R¹ und R² die oben angegebenen Bedeutungen haben,

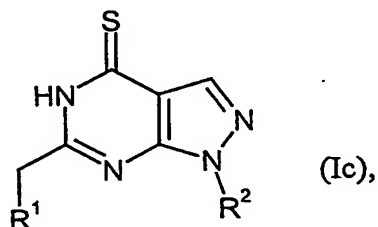
überführt,

15

und diese in einem zweiten Schritt in einem inerten Lösemittel und in Anwesenheit einer Base und eines Oxidationsmittels zu (Ib) cyclisiert,

und die Verbindungen der Formel (Ib) gegebenenfalls dann durch Umsetzung mit einem Schwefelungsmittel wie beispielsweise Diphosphorpentasulfid in die Thionoderivate der Formel

20



in welcher

R^1 und R^2 die oben angegebenen Bedeutungen haben,

überführt,

- 5 und die resultierenden Verbindungen der Formel (I) gegebenenfalls mit den entsprechenden (i) Lösungsmitteln und/oder (ii) Basen oder Säuren zu ihren Solvaten, Salzen und/oder Solvaten der Salze umsetzt.

10 Für den ersten Schritt des Verfahrens [A] und des Verfahrens [C] eignen sich inerte organische Lösemittel, die sich unter den Reaktionsbedingungen nicht verändern. Hierzu gehören bevorzugt Ether wie beispielsweise Diethylether, Dioxan, Tetrahydrofuran oder Glykoldimethylether, oder Toluol oder Pyridin. Ebenso ist es möglich, Gemische der genannten Lösemittel einzusetzen. Besonders bevorzugt sind Tetrahydrofuran, Toluol oder Pyridin.

15 Als Basen eignen sich im allgemeinen Alkalihydride, wie beispielsweise Natriumhydrid, oder cyclische Amine, wie beispielsweise Piperidin, Pyridin, Dimethylaminopyridin (DMAP), oder C_1 - C_4 -Alkylamine, wie beispielsweise Triethylamin. Bevorzugt sind Natriumhydrid, Pyridin und/oder Dimethylaminopyridin.

20 Die Base wird im allgemeinen in einer Menge von 1 mol bis 4 mol, bevorzugt von 1,2 mol bis 3 mol, jeweils bezogen auf 1 mol der Verbindungen der Formel (II) bzw. (V), eingesetzt.

25 In einer Variante wird die Umsetzung in Pyridin, dem eine katalytische Menge DMAP zugesetzt wird, durchgeführt. Gegebenenfalls kann noch Toluol zugefügt werden.

30 Die Reaktionstemperatur kann im allgemeinen in einem größeren Bereich variiert werden. Im allgemeinen arbeitet man in einem Bereich von -20°C bis $+200^\circ\text{C}$, bevorzugt von 0°C bis $+100^\circ\text{C}$.

Als Lösemittel für die Cyclisierung im zweiten Schritt der Verfahren [A] und [C] eignen sich die üblichen organischen Lösemittel. Hierzu gehören bevorzugt Alkohole wie Methanol, Ethanol, Propanol, Isopropanol, n-Butanol oder tert.-Butanol, oder Ether wie Tetrahydrofuran oder Dioxan, oder Dimethylformamid oder Dimethylsulfoxid. Besonders bevorzugt werden Alkohole wie Methanol, Ethanol, Propanol, Isopropanol oder tert.-Butanol verwendet. Ebenso ist es möglich, Gemische der genannten Lösemittel einzusetzen.

Als Basen für die Cyclisierung im zweiten Schritt der Verfahren [A] und [C] eignen sich die üblichen anorganischen Basen. Hierzu gehören bevorzugt Alkalihydroxide oder Erdalkalihydroxide wie beispielsweise Natriumhydroxid, Kaliumhydroxid oder Bariumhydroxid, oder Alkalicarbonat wie Natrium- oder Kaliumcarbonat oder Natriumhydrogencarbonat, oder Alkalialkohlolate wie Natriummethanolat, Natriumethanolat, Kaliummethanolat, Kaliumethanolat oder Kalium-tert.-butanolat. Besonders bevorzugt sind Kaliumcarbonat, Natriumhydroxid und Kalium-tert.-butanolat.

Bei der Durchführung der Cyclisierung wird die Base im allgemeinen in einer Menge von 2 mol bis 6 mol, bevorzugt von 3 mol bis 5 mol, jeweils bezogen auf 1 mol der Verbindungen der Formel (IV) bzw. (VI), eingesetzt.

Als Oxidationsmittel für die Cyclisierung im zweiten Schritt des Verfahrens [C] eignen sich beispielsweise Wasserstoffperoxid oder Natriumborat. Bevorzugt ist Wasserstoffperoxid.

Die Cyclisierung in den Verfahren [A], [B] und [C] wird im allgemeinen in einem Temperaturbereich von 0°C bis +160°C, bevorzugt bei der Siedetemperatur des jeweiligen Lösemittels durchgeführt.

Die Cyclisierung wird im allgemeinen bei Normaldruck durchgeführt. Es ist aber auch möglich, das Verfahren bei Überdruck oder bei Unterdruck durchzuführen (z.B. in einem Bereich von 0.5 bis 5 bar).

- 5 Als Lösemittel für das Verfahren [B] eignen sich die oben für den zweiten Schritt der Verfahren [A] und [C] aufgeführten Alkohole, wobei Ethanol bevorzugt ist.

- 10 Als Basen für das Verfahren [B] eignen sich Alkalihydride, wie beispielsweise Natrium- oder Kaliumhydrid, oder Alkalialkoholate, wie beispielsweise Natrium-methanolat, -ethanolat, -isopropylat oder Kalium-tert.-butylat. Bevorzugt ist Natriumhydrid.

Die Base wird in einer Menge von 2 mol bis 8 mol, bevorzugt von 3 mol bis 6 mol, jeweils bezogen auf 1 mol der Verbindungen der Formel (II), eingesetzt.

- 15 Die Verbindungen der Formel (II) sind bekannt oder können beispielsweise hergestellt werden, indem man zunächst Ethoxymethylenmalonsäuredinitril mit Hydrazin-Derivaten der Formel

- 20
$$R^2-NH-NH_2 \quad (VII),$$

in welcher

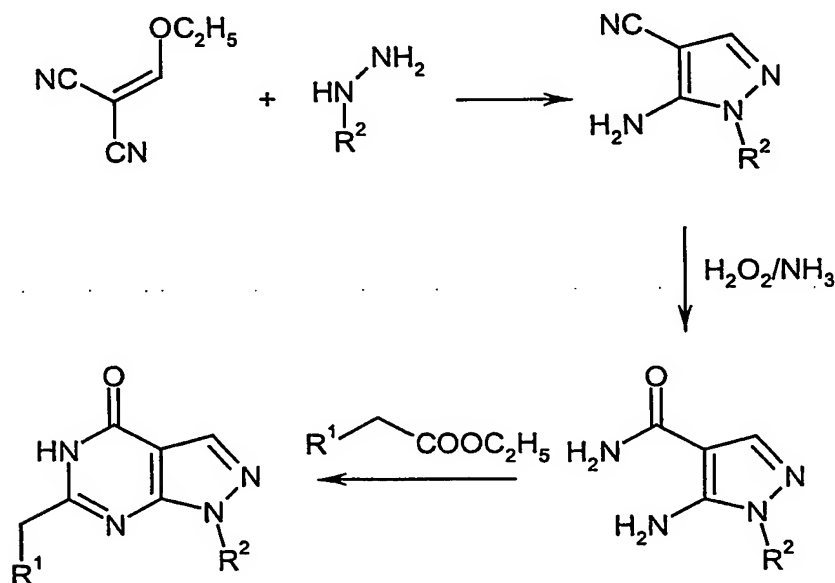
25 R^2 die oben angegebenen Bedeutungen hat,

in einem inerten Lösemittel zu den Pyrazolnitrilen der Formel (V) kondensiert und diese dann mit einem der oben aufgeführten Oxidationsmittel, vorzugsweise Wasserstoffperoxid, in Anwesenheit von Ammoniak umgesetzt [vgl. z.B. A. Miyashita et al., Heterocycles 1990, 31, 1309ff].

Die Verbindungen der Formeln (IIIa), (IIIb) und (VII) sind kommerziell erhältlich, literaturbekannt oder können in Analogie zu literaturbekannten Verfahren hergestellt werden.

- 5 Das erfindungsgemäße Verfahren kann durch das folgendes Formelschema beispielhaft erläutert werden:

Schema



Weitere Verfahren zur Herstellung von Pyrazolo[3,4-d]pyrimidin-4-onen sind bekannt und können ebenfalls zur Synthese der erfindungsgemäßen Verbindungen eingesetzt werden (siehe zum Beispiel: P. Schmidt et al., *Helvetica Chimica Acta* 1962, 189, 1620ff.).

Die erfindungsgemäßen Verbindungen zeigen ein nicht vorhersehbares, wertvolles pharmakologisches Wirkspektrum.

Überraschenderweise wurde gefunden, dass selektive PDE9A-Inhibitoren zur Herstellung von Arzneimitteln zur Verbesserung der Wahrnehmung, Konzentrationsleistung, Lernleistung oder Gedächtnisleistung geeignet sind.

5 Die erfindungsgemäßen Verbindungen können aufgrund ihrer pharmakologischen Eigenschaften allein oder in Kombination mit anderen Arzneimitteln zur Verbesserung von Wahrnehmung, Konzentrationsleistung, Lern- und/oder Gedächtnisleistung eingesetzt werden.

10 Ein PDE9A-Inhibitor im Sinne der Erfindung ist eine Verbindung, die humane PDE9A unter den unten angegebenen Bedingungen mit einem IC_{50} -Wert von weniger als 10 μM , bevorzugt weniger als 1 μM .

15 Ein selektiver PDE9A-Inhibitor im Sinne der Erfindung ist eine Verbindung, die humane PDE9A unter den unten angegebenen Bedingungen stärker hemmt als die humanen PDE1C, PDE2A, PDE3B, PDE4B, PDE5A, PDE7B, PDE8A, PDE10A und PDE11. Bevorzugt ist ein Verhältnis von IC_{50} (PDE9A)/ IC_{50} (PDE1C, PDE2A, PDE3B, PDE4B, PDE5A, PDE7B und PDE10A) kleiner als 0,2.

20 Besonders eignen sich die selektiven PDE9A-Inhibitoren zur Verbesserung der Wahrnehmung, Konzentrationsleistung, Lernleistung, oder Gedächtnisleistung nach Kognitiven Störungen, wie sie insbesondere bei Situationen/Krankheiten/Syndromen auftreten wie „Mild cognitive impairment“, Altersassoziierte Lern- und Gedächtnisstörungen, Altersassoziierte Gedächtnisverluste, Vaskuläre Demenz, Schädel-Hirn-Trauma, Schlaganfall, Demenz, die nach Schlaganfällen auftritt („post stroke dementia“), post-traumatische Demenz, allgemeine Konzentrationsstörungen, Konzentrationsstörungen in Kindern mit Lern- und Gedächtnisproblemen, Alzheimer'sche Krankheit, Demenz mit Lewy-Körperchen, Demenz mit Degeneration der Frontallappen einschließlich des Pick's Syndroms, Parkinson'sche Krankheit, Progressive nuclear palsy, Demenz mit corticobasaler Degeneration, Amyotrophe Lateralsklerose (ALS), Huntingtonsche Krankheit, Multiple Sklerose, Thalamische Degene-

25

30

ration, Creutzfeld-Jacob-Demenz, HIV-Demenz, Schizophrenie mit Demenz oder Korsakoff-Psychose.

Die *in vitro*-Wirkung der erfindungsgemäßen Verbindungen kann mit folgenden biologischen Assays gezeigt werden:

PDE-Inhibition

Rekombinante PDE1C (GenBank/EMBL Accession Number: NM_005020, Loughney et al. *J. Biol. Chem.* 1996 271, 796-806), PDE2A (GenBank/EMBL Accession Number: NM_002599, Rosman et al. *Gene* 1997 191, 89-95), PDE3B (GenBank/EMBL Accession Number: NM_000922, Miki et al. *Genomics* 1996, 36, 476-485), PDE4B (GenBank/EMBL Accession Number: NM_002600, Obernolte et al. *Gene* 1993, 129, 239-247), PDE5A (GenBank/EMBL Accession Number: NM_001083, Loughney et al. *Gene* 1998, 216, 139-147), PDE7B (GenBank/EMBL Accession Number: NM_018945, Hetman et al. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 2000, 97, 472-476), PDE8A (GenBank/EMBL Accession Number: AF_056490, Fisher et al. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1998 246, 570-577), PDE9A (Fisher et al., *J. Biol. Chem.* 1998, 273 (25): 15559 – 15564), E10A (GenBank/EMBL Accession Number: NM_06661, Fujishige et al. *J Biol Chem.* 1999, 274, 18438-45.), PDE11A (GenBank/EMBL Accession Number: NM_016953, Fawcett et al. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 2000, 97, 3702-3707) wurden mit Hilfe des pFASTBAC Baculovirus Expressionssystem (GibcoBRL) in Sf9 Zellen exprimiert.

Die Testsubstanzen werden zur Bestimmung ihrer *in vitro* Wirkung an PDE 9A in 100% DMSO aufgelöst und seriell verdünnt. Typischerweise werden Verdünnungsreihen von 200 μ M bis 1.6 μ M hergestellt (resultierende Endkonzentrationen im Test: 4 μ M bis 0.032 μ M). Jeweils 2 μ L der verdünnten Substanzlösungen werden in die Vertiefungen von Mikrotiterplatten (Isoplate; Wallac Inc., Atlanta, GA) vorgelegt. Anschließend werden 50 μ L einer Verdünnung des oben beschriebenen PDE9A Präparates hinzugefügt. Die Verdünnung des PDE9A Präparates wird so gewählt, dass während der späteren Inkubation weniger als 70% des Substrates um-

gesetzt wird (typische Verdünnung: 1: 10000; Verdünnungspuffer: 50 mM Tris/HCl pH 7.5, 8.3 mM MgCl₂, 1.7 mM EDTA, 0.2% BSA). Das Substrat, [8-³H] guanosine 3', 5'-cyclic phosphate (1 µCi/µL; Amersham Pharmacia Biotech., Piscataway, NJ) wird 1:2000 mit Assaypuffer (50 mM Tris/HCl pH 7.5, 8.3 mM MgCl₂, 1.7 mM EDTA) auf eine Konzentration von 0.0005 µCi/µL verdünnt. Durch Zugabe von 50 µL (0.025 µCi) des verdünnten Substrates wird die Enzymreaktion schließlich gestartet. Die Testansätze werden für 60 min bei Raumtemperatur inkubiert und die Reaktion durch Zugabe von 25 µl eines in Assaypuffer gelösten PDE9A-Inhibitors (z.B. der Inhibitor aus Herstellbeispiel 1, 10 µM Endkonzentration) gestoppt. Direkt im Anschluß werden 25 µL einer Suspension mit 18 mg/mL Yttrium Scintillation Proximity Beads (Amersham Pharmacia Biotech., Piscataway, NJ.) hinzugefügt. Die Mikrotiterplatten werden mit einer Folie versiegelt und für 60 min bei Raumtemperatur stehengelassen. Anschließend werden die Platten für 30 s pro Vertiefung in einem Microbeta Szintillationzähler (Wallac Inc., Atlanta, GA) vermessen. IC₅₀-Werte werden anhand der graphischen Auftragung der Substanzkonzentration gegen die prozentuale Inhibition bestimmt.

Die *in vitro* Wirkung von Testsubstanzen an rekombinanter PDE3B, PDE4B, PDE7B, PDE8A, PDE10A und PDE11A wird nach dem oben für PDE 9A beschriebenen Testprotokoll mit folgenden Anpassungen bestimmt: Als Substrat wird [5',8-³H] adenosine 3', 5'-cyclic phosphate (1 µCi/µL; Amersham Pharmacia Biotech., Piscataway, NJ) verwendet. Die Zugabe einer Inhibitorlösung zum Stoppen der Reaktion ist nicht notwendig. Stattdessen wird in Anschluß an die Inkubation von Substrat und PDE direkt mit der Zugabe der Yttrium Scintillation Proximity Beads wie oben beschrieben fortgefahren und dadurch die Reaktion gestoppt. Für die Bestimmung einer entsprechenden Wirkung an rekombinanter PDE1C, PDE2A und PDE5A wird das Protokoll zusätzlich wie folgt angepaßt: Bei PDE1C werden zusätzlich Calmodulin 10⁻⁷ M und CaCl₂ 3mM zum Reaktionsansatz gegeben. PDE2A wird im Test durch Zugabe von cGMP 1 µM stimuliert und mit einer BSA Konzentration von 0,01 % getestet. Für PDE1C und PDE2A wird als Substrat [5',8-³H] adenosine 3', 5'-cyclic phosphate (1 µCi/µL; Amersham Pharmacia Biotech., Piscataway, NJ), für

PDE5A [$8\text{-}^3\text{H}$] guanosine 3', 5'-cyclic phosphate ($1\text{ }\mu\text{Ci}/\mu\text{L}$; Amersham Pharmacia Biotech., Piscataway, NJ) eingesetzt.

Die PDE9A-inhibierende Wirkung der erfindungsgemäßen Verbindungen kann anhand der folgenden Beispiele gezeigt werden:

Tabelle 1:

Beispiel	IC ₅₀ [nM]
1	20
2	30
4	30
10	64
13	30

Erhöhung der intrazellulären neuronalen cGMP-Konzentration in Zellkulturen

PDE9A-Inhibitoren erhöhen die intrazelluläre neuronale cGMP in kultivierten primären kortikalen Neuronen.

Rattenembryonen (Embryonaltag E17 - E19) wurden dekapitiert, die Köpfe in mit Präparationsmedium (DMEM, Penicillin/Streptomycin; beides von Gibco) gefüllte Präparationsschalen überführt. Die Kopfhaut und Schädeldecke wurde entfernt, und die freipräparierten Gehirne wurden in eine weitere Petrischale mit Präparationsmedium überführt. Mithilfe eines Binokulars und zweier Pinzetten wurde das Großhirn (Kortex) isoliert und mit Eis auf $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ gekühlt. Diese Präparation und die Vereinzelung der kortikalen Neuronen wurden dann nach einem Standardprotokoll mit dem Papain-Kit (Worthington Biochemical Corporation, Lakewood, New Jersey 08701, USA) durchgeführt (Huettner et al. *J. Neurosci.* 1986, 6, 3044-3060). Die mechanisch vereinzelten kortikalen Neurone wurden zu 150.000 Zellen/Loch in $200\text{ }\mu\text{l}$

Neurobasalmedium/Loch (Neurobasal; B27 Supplement; 2 mM L-Glutamin; in Anwesenheit von Penicillin/Streptomycin; alle Agenzien von Gibco) 7 Tage in 96 Lochplatten (mit Poly-D Lysin 100 µg/ml für 30 min vorbehandelt) unter Standard Bedingungen kultiviert (37°C, 5 % CO₂). Nach 7 Tagen wurde das Medium abgenommen und die Zellen mit HBSS Puffer (Hank's balanced salt solution, Gibco/BRL) gewaschen. Anschließend werden 100 µl erfindungsgemäße Verbindung in HBSS Puffer gelöst (zuvor in 100 % DMSO gelöst: 10 mM) auf die Zellen gegeben. Anschließend werden nochmals 100 µl HBSS Puffer zugegeben, sodass die Endkonzentration der erfindungsgemäßen Verbindungen beispielsweise in einem Bereich von 20 nM bis 10 µM liegen und bei 37°C für 20 min inkubiert. Der Testpuffer wird danach komplett abgenommen. Anschließend werden die Zellen in 200 µl Lysispuffer (cGMP Kit code RPN 226; von Amersham Pharmacia Biotech.) lysiert und die cGMP Konzentration nach den Angaben des Herstellers gemessen. Alle Messungen werden in Triplikaten durchgeführt. Die statistische Auswertung erfolgt mit Prism Software Version 2.0 (GraphPad Software Inc., San Diego, CA USA).

Inkubation der primären Neuronen mit den erfindungsgemäßen Verbindungen führte zu einer Steigerung des cGMP Gehaltes.

Langzeitpotenzierung

Langzeitpotenzierung wird als ein zelluläres Korrelat für Lern- und Gedächtnisvorgänge angesehen. Zur Bestimmung, ob PDE9 Inhibition einen Einfluß auf Langzeitpotenzierung hat, kann folgende Methode angewandt werden:

Rattenhippokampi werden in einen Winkel von etwa 70 Grad im Verhältnis zur Schnittklinge plziert (Chopper). In Abständen von 400 µm wird der Hippokampus zerschnitten. Die Schnitte werden mit Hilfe eines sehr weichen, stark benetzten Pinsels (Marderhaar) von der Klinge genommen und in ein Glasgefäß mit carbogenisierter gekühlter Nährlösung (124 mM NaCl, 4,9 mM KCl, 1,3 mM MgSO₄* 7H₂O, 2,5 mM CaCl₂²⁺ Wasser- frei, 1,2 mM KH₂PO₄, 25,6 mM NaHCO₃, 10 mM Glucose, pH 7.4) überführt. Während der Messung befinden sich die Schnitte in einer

temperierten Kammer unter einem Flüssigkeitsspiegel von 1-3 mm Höhe. Die Durchflußrate beträgt 2,5 ml/min. Die Vorbegasung erfolgt unter geringen Überdruck (etwa 1 atm) sowie über eine Mikrokanüle in der Vorkammer. Die Schnittkammer ist mit der Vorkammer so verbunden, daß eine Minizirkulation aufrechterhalten werden kann. Als Antrieb der Minizirkulation wird das durch die Mikrokanüle ausströmende Carbogen eingesetzt. Die frisch präparierten Hippokampusschnitte werden mindestens 1 Stunde bei 33°C in der Schnittkammer adaptiert.

Die Reizstärke wird so gewählt, daß die fokalen exzitatorischen postsynaptischen Potentiale (fEPSP) 30 % des maximalen exzitatorischen postsynaptischen Potentials (EPSP) betragen. Mit Hilfe einer monopolaren Stimulationselektrode, die aus lackiertem Edelstahl besteht und eines stromkonstanten, biphasischen Reizgenerators (AM-Systems 2100), werden lokal die Schaffer-Kollateralen erregt (Spannung: 1-5 V, Impulsbreite einer Polarität 0,1 ms, Gesamtimpuls 0,2 ms). Mit Hilfe von Glaselektroden (Borosilikatglas mit Filament, 1-5 MOhm, Durchmesser: 1,5 mm, Spitzendurchmesser: 3-20 µm), die mit normaler Nährlösung gefüllt sind, werden aus dem Stratum radiatum die exzitatorischen postsynaptischen Potentiale (fEPSP) registriert. Die Messung der Feldpotentiale geschieht gegenüber einer chlorierten Referenzelektrode aus Silber, die sich am Rande der Schnittkammer befindet, mit Hilfe eines Gleichspannungsverstärkers. Das Filtern der Feldpotentiale erfolgt über einen Low-Pass Filter (5 kHz). Für die statistische Analyse der Experimente wird der Anstieg (slope) der fEPSPs (fEPSP-Anstieg) ermittelt. Die Aufnahme, Analyse und Steuerung des Experimentes erfolgt mit Hilfe eines Softwareprogrammes (PWIN), welches in der Abteilung Neurophysiologie entwickelt worden ist. Die Mittelwertbildung der fEPSP-Anstiegswerte zu den jeweiligen Zeitpunkten und die Konstruktion der Diagramme erfolgt mit Hilfe der Software EXCEL, wobei ein entsprechendes Makro die Aufnahme der Daten automatisiert.

Superfusion der Hippokampusschnitte mit einer 10 µM Lösung der erfindungsgemäßen Verbindungen führt zu einer signifikanten Steigerung der LTP.

Sozialer Wiedererkennungstest:

Der Soziale Wiedererkennungstest ist ein Lern- und Gedächtnistest. Er misst die Fähigkeit von Ratten, zwischen bekannten und unbekannten Artgenossen zu unterscheiden. Deshalb eignet sich dieser Test zur Prüfung der lern- oder gedächtnisverbessernden Wirkung der erfindungsgemäßen Verbindungen.

Adulte Ratten, die in Gruppen gehalten werden, werden 30 min vor Testbeginn einzeln in Testkäfige gesetzt. Vier min vor Testbeginn wird das Testtier in eine Beobachtungsbox gebracht. Nach dieser Adaptationszeit wird ein juveniles Tier zu dem Testtier gesetzt und 2 min lang die absolute Zeit gemessen, die das adulte Tier das Junge inspiziert (Trial 1). Gemessen werden alle deutlich auf das Jungtier gerichteten Verhaltensweisen, d.h. ano-genitale Inspektion, Verfolgen sowie Fellpflege, bei denen das Alttier einen Abstand von höchstens 1 cm zu dem Jungtier hatte. Danach wird das Juvenile herausgenommen, das Adulte mit einer erfindungsgemäßen Verbindung oder Vehikel behandelt und anschließend in seinen Heimkäfig zurückgesetzt. Nach einer Retentionszeit von 24 Stunden wird der Test wiederholt (Trial 2). Eine verringerte Soziale Interaktionszeit im Vergleich zu Trial 1 zeigt an, daß die adulte Ratte sich an das Jungtier erinnert.

Die adulten Tiere werden direkt im Anschluß an Trial 1 entweder mit Vehikel (10 % Ethanol, 20 % Solutol, 70 % physiologische Kochsalzlösung) oder 0,1 mg/kg, 0,3 mg/kg, 1,0 mg/kg bzw. 3,0 mg/kg erfindungsgemäßer Verbindung, gelöst in 10 % Ethanol, 20 % Solutol, 70 % physiologische Kochsalzlösung intraperitoneal injiziert. Vehikel behandelte Ratten zeigen keine Reduktion der sozialen Interaktionszeit in Trial 2 verglichen mit Trial 1. Sie haben folglich vergessen, dass sie schon einmal Kontakt mit dem Jungtier hatten. Überraschenderweise ist die soziale Interaktionszeit im zweiten Durchgang nach Behandlung mit den erfindungsgemäßen Verbindungen signifikant gegenüber den Vehikel behandelten reduziert. Dies bedeutet, daß die substanzbehandelten Ratten sich an das juvenile Tier erinnert haben und somit die erfindungsgemäßen Verbindungen eine verbessernde Wirkung auf Lernen und Gedächtnis aufweist.

Die neuen Wirkstoffe können in bekannter Weise in die üblichen Formulierungen überführt werden, wie Tabletten, Dragees, Pillen, Granulate, Aerosole, Sirupe, Emulsionen, Suspensionen und Lösungen, unter Verwendung inerter, nicht toxischer, pharmazeutisch geeigneter Trägerstoffe oder Lösungsmittel. Hierbei soll die therapeutisch wirksame Verbindung jeweils in einer Konzentration von etwa 0,5 bis 90 Gew.-% der Gesamtmischung vorhanden sein, d.h. in Mengen, die ausreichend sind, um den angegebenen Dosierungsspielraum zu erreichen.

10 Die Formulierungen werden beispielsweise durch Verstrecken der Wirkstoffe mit Lösungsmitteln und/oder Trägerstoffen, gegebenenfalls unter Verwendung von Emulgiermitteln und/oder Dispergiertmitteln hergestellt, wobei z.B. im Fall der Benutzung von Wasser als Verdünnungsmittel gegebenenfalls organische Lösungsmittel als Hilfslösungsmittel verwendet werden können.

15 Die Applikation erfolgt in üblicher Weise, vorzugsweise oral, transdermal oder parenteral, insbesondere perlingual oder intravenös. Sie kann aber auch durch Inhalation über Mund oder Nase, beispielsweise mit Hilfe eines Sprays, oder topisch über die Haut erfolgen.

20 Im Allgemeinen hat es sich als vorteilhaft erwiesen, Mengen von etwa 0,001 bis 10, bei oraler Anwendung vorzugsweise etwa 0,005 bis 3 mg/kg Körpergewicht zur Erzielung wirksamer Ergebnisse zu verabreichen.

25 Trotzdem kann es gegebenenfalls erforderlich sein, von den genannten Mengen abzuweichen, und zwar in Abhängigkeit vom Körpergewicht bzw. der Art des Applikationsweges, vom individuellen Verhalten gegenüber dem Medikament, der Art von dessen Formulierung und dem Zeitpunkt bzw. Intervall, zu welchen die Verabreichung erfolgt. So kann es in einigen Fällen ausreichend sein, mit weniger als der vor-

30 genannten Mindestmenge auszukommen, während in anderen Fällen die genannte obere Grenze überschritten werden muss. Im Falle der Applikation größerer Mengen

kann es empfehlenswert sein, diese in mehreren Einzelgaben über den Tag zu verteilen.

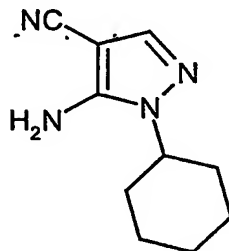
5. Soweit nicht anders angegeben, beziehen sich alle Mengenangaben auf Gewichtsprozent. Lösungsmittelverhältnisse, Verdünnungsverhältnisse und Konzentrationsangaben von flüssig/flüssig-Lösungen beziehen sich jeweils auf das Volumen. Die Angabe "w/v" bedeutet "weight/volume" (Gewicht/Volumen). So bedeutet beispielsweise "10 % w/v": 100 ml Lösung oder Suspension enthalten 10 g Substanz.

Verwendete Abkürzungen:

DCI	direkte chemische Ionisation (bei MS)
DCM	Dichlormethan
DMSO	Dimethylsulfoxid
d.Th.	der Theorie (bei Ausbeute)
equiv.	Äquivalent(e)
ESI	Elektrospray-Ionisation (bei MS)
HPLC	Hochdruck-, Hochleistungsflüssigchromatographie
MS	Massenspektroskopie
NMR	Kernresonanzspektroskopie
Smp.	Schmelzpunkt
TRIS	

Ausgangsverbindungen:Beispiel 1A

5-Amino-1-cyclohexyl-1H-pyrazol-4-carbonitril



Eine Lösung von Cyclohexylhydrazin-Hydrochlorid (3 g, 19,9 mmol) in 36 ml Ethanol wird bei Raumtemperatur zunächst mit Ethoxymethylenmalonsäuredinitril (2.43 g, 19,9 mmol) und anschließend mit 8 ml Triethylamin versetzt. Das Gemisch wird 20 min refluxiert und dann abgekühlt. Das Lösungsmittel wird am Rotationsverdampfer abgezogen und der Rückstand in DCM aufgenommen, mit wässriger Natriumhydrogencarbonat-Lösung gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und im Vakuum eingeengt. Das Rohprodukt wird an Kieselgel chromatographiert (Laufmittel: Dichlormethan/Methanol 0-10 %).

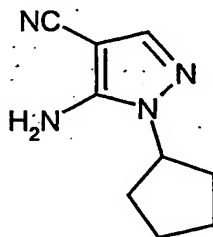
Ausbeute: 1.95 g (51 % d.Th.)

MS (DCI): $m/z = 191$ ($M+H$)⁺

¹H-NMR (200 MHz, DMSO-d₆): $\delta = 7.5$ (s, 1H), 6.5 (s, 2H), 4.0 (m, 1H), 1.95-1.05 (m, 10H) ppm.

Beispiel 2A

5-Amino-1-cyclopentyl-1H-pyrazol-4-carbonitril



5

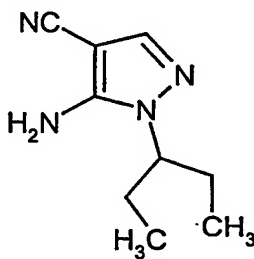
Die Herstellung erfolgt analog der Vorschrift für Beispiel 1A.

MS (ESI): $m/z = 177$ ($M+H$)⁺¹H-NMR (200 MHz, CDCl₃): $\delta = 7.5$ (s, 1H), 4.45 (br. s, 2H), 4.35 (m, 1H), 2.2-1.55 (m, 6H) ppm.

10

Beispiel 3A

5-Amino-1-(1-ethylpropyl)-1H-pyrazol-4-carbonitril

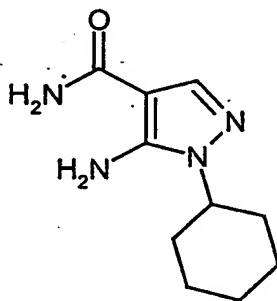


15

Die Herstellung erfolgt analog der Vorschrift für Beispiel 1A.

MS (ESI): $m/z = 179$ ($M+H$)⁺¹H-NMR (300 MHz, DMSO-d₆): $\delta = 7.55$ (s, 1H), 6.45 (s, 2H), 4.0 (m, 1H), 1.8-1.55 (m, 4H), 0.65 (t, 6H) ppm.

20

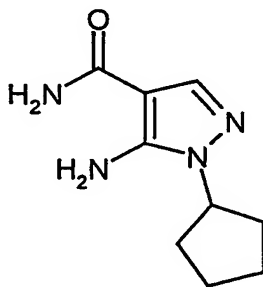
Beispiel 4A**5-Amino-1-cyclohexyl-1H-pyrazol-4-carboxamid**

5 Eine Lösung von 5-Amino-1-cyclohexyl-1H-pyrazol-4-carbonitril (1,86 g, 9,81 mmol) in einem Gemisch aus 73 ml Ethanol und 90 ml konzentrierter wässriger Ammoniaklösung wird bei Raumtemperatur mit 18 ml 30%-iger Wasserstoffperoxidlösung versetzt und 1 h bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend werden am Rotationsverdampfer die nichtwässrigen Lösemittel abgezogen. Aus der verbleibenden Mischung fällt das Produkt als Feststoff aus, der abgesaugt, mit wenig Wasser gewaschen und im Hochvakuum getrocknet wird.

Ausbeute: 1,77 g (86 % d.Th.)

MS (DCI): $m/z = 209$ ($M+H$)⁺

¹H-NMR (300 MHz, DMSO-d₆): $\delta = 7.6$ (s, 1H), 7.3-6.4 (breit, 2H), 6.1 (s, 2H), 3.95 (m, 1H), 1.95-1.05 (m, 10H) ppm.

Beispiel 5A**5-Amino-1-cyclopentyl-1H-pyrazol-4-carboxamid**

Die Herstellung erfolgt analog der Vorschrift für Beispiel 4A.

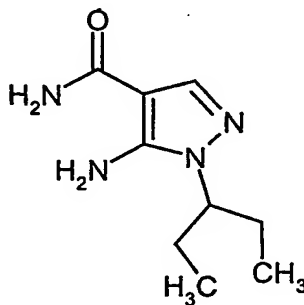
MS (ESI): $m/z = 195$ ($M+H$)⁺

¹H-NMR (200 MHz, CDCl₃): $\delta = 7.5$ (s, 1H), 5.6-4.8 (breit, 4H), 4.35 (m, 1H), 2.2-1.55 (m, 8H) ppm.

5

Beispiel 6A

5-Amino-1-(1-ethylpropyl)-1H-pyrazol-4-carboxamid



10

Die Herstellung erfolgt analog der Vorschrift für Beispiel 4A.

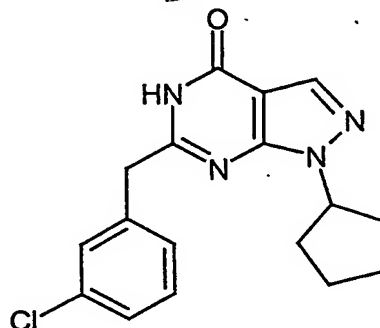
MS (ESI): $m/z = 197$ ($M+H$)⁺

¹H-NMR (300 MHz, DMSO-d₆): $\delta = 7.65$ (s, 1H), 6.9 (br. s, 2H), 6.1 (s, 2H), 3.9 (m, 1H), 1.85-1.6 (m, 4H), 0.7 (t, 6H) ppm.

15

Ausführungsbeispiele:Beispiel 1

6-(3-Chlorbenzyl)-1-cyclopentyl-1,5-dihydro-4H-pyrazolo[3,4-d]pyrimidin-4-on



Unter Argon werden 180 mg (0,91 mmol) 5-Amino-1-cyclopentyl-1H-pyrazol-4-carboxamid und 575 mg (2,72 mmol; 3 equiv.) (3-Chlorphenyl)essigsäureethylester in 3.5 ml absolutem Ethanol vorgelegt. Bei 0°C werden 127 mg Natriumhydrid (60%-ige Dispersion in Mineralöl; 3,18 mmol; 3.5 equiv.) im Argon-Gegenstrom langsam zugegeben. Das entstandene Gemisch wird langsam erwärmt und für 18 h unter Rückfluß gerührt. Zur Aufarbeitung wird 50 ml Wasser zugegeben und das Gemisch mehrmals mit Essigsäureethylester extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über Natriumsulfat getrocknet und im Vakuum eingengt. Das Rohprodukt wird mittels präparativer HPLC gereinigt.

Ausbeute: 244 mg (81 % d.Th.)

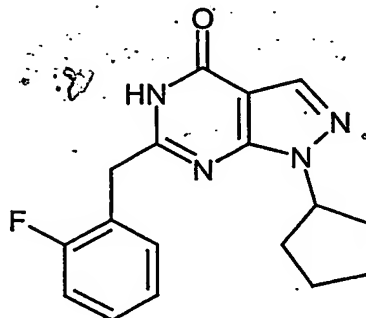
MS (ESI): $m/z = 329$ ($M+H$)⁺

Smp.: 159°C

¹H-NMR (200 MHz, DMSO-d₆): $\delta = 12.3$ (s, 1H), 8.0 (s, 1H), 7.5-7.2 (m, 4H), 5.05 (m, 1H), 3.95 (s, 2H), 2.2-1.5 (m, 8H) ppm.

Beispiel 2

6-(2-Fluorbenzyl)-1-cyclopentyl-1,5-dihydro-4H-pyrazolo[3,4-d]pyrimidin-4-on



5

Analog zu Beispiel 1 wird das Produkt ausgehend von 100 mg (0,5 mmol) 5-Amino-1-cyclopentyl-1H-pyrazol-4-carboxamid und 260 mg (1,51 mmol) (2-Fluorphenyl)-essigsäuremethylester erhalten.

Ausbeute: 100 mg (63 % d.Th.)

10

MS (DCI): $m/z = 313$ ($M+H$)⁺

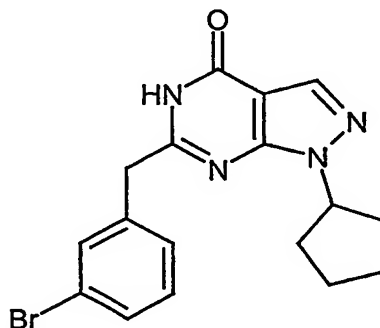
Smp.: 180°C

¹H-NMR (400 MHz, DMSO-d₆): $\delta = 12.25$ (s, 1H), 8.0 (s, 1H), 7.4-7.3 (m, 2H), 7.2-7.1 (m, 2H), 4.95 (m, 1H), 4.05 (s, 2H), 2.05-1.55 (m, 8H) ppm.

15

Beispiel 3

6-(3-Brombenzyl)-1-cyclopentyl-1,5-dihydro-4H-pyrazolo[3,4-d]pyrimidin-4-on



20

Analog zu Beispiel 1 wird das Produkt ausgehend von 80 mg (0,4 mmol) 5-Amino-1-cyclopentyl-1H-pyrazol-4-carboxamid und 277 mg (1,21 mmol) (3-Bromphenyl)-essigsäuremethylester erhalten.

Ausbeute: 93 mg (62 % d.Th.)

5 MS (ESI): $m/z = 373$ ($M+H$)⁺

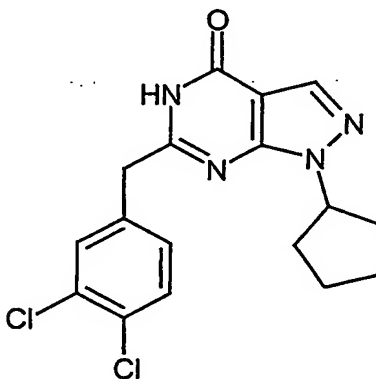
Smp.: 159°C

¹H-NMR (400 MHz, DMSO-d₆): $\delta = 12.2$ (s, 1H), 8.0 (s, 1H), 7.6 (s, 1H), 7.5-7.35 (m, 3H), 5.05 (m, 1H), 4.0 (s, 2H), 2.1-1.6 (m, 8H) ppm.

10

Beispiel 4

6-(3,4-Dichlorbenzyl)-1-cyclopentyl-1,5-dihydro-4H-pyrazolo[3,4-d]pyrimidin-4-on



15

Analog zu Beispiel 1 wird das Produkt ausgehend von 75 mg (0,38 mmol) 5-Amino-1-cyclopentyl-1H-pyrazol-4-carboxamid und 254 mg (1,14 mmol) (3,4-Dichlorphenyl)essigsäuremethylester erhalten.

Ausbeute: 94 mg (68 % d.Th.)

20 MS (ESI): $m/z = 363$ ($M+H$)⁺

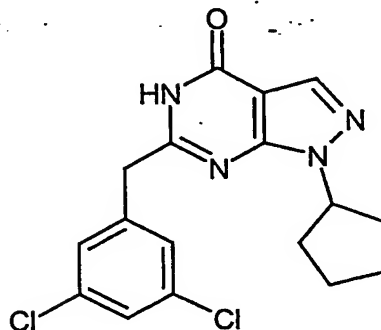
Smp.: 198°C

¹H-NMR (400 MHz, DMSO-d₆): $\delta = 12.2$ (s, 1H), 8.0 (s, 1H), 7.65 (d, 1H, $J = 1$ Hz), 7.55 (d, 1H, $J = 7.5$ Hz), 7.3 (dd, 1H, $J = 7.5$ Hz, 1 Hz), 5.05 (m, 1H), 4.0 (s, 2H), 2.1-1.6 (m, 8H) ppm.

Beispiel 5

6-(3,5-Dichlorbenzyl)-1-cyclopentyl-1,5-dihydro-4H-pyrazolo[3,4-d]pyrimidin-4-on

5



10

Analog zu Beispiel 1 wird das Produkt ausgehend von 150 mg (0,76 mmol) 5-Amino-1-cyclopentyl-1H-pyrazol-4-carboxamid und 507 mg (2,27 mmol) (3,5-Dichlorphenyl)essigsäuremethylester erhalten.

Ausbeute: 159 mg (58 % d.Th.)

MS (ESI): $m/z = 363$ ($M+H$)⁺

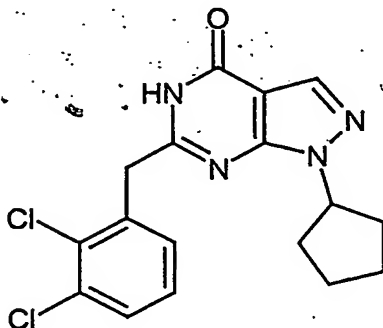
Smp.: 177°C

15

¹H-NMR (200 MHz, DMSO-d₆): $\delta = 12.25$ (s, 1H), 8.0 (s, 1H), 7.55 (t, 1H, $J = 1$ Hz), 7.45 (d, 2H, $J = 1$ Hz), 5.05 (m, 1H), 4.0 (s, 2H), 2.2-1.5 (m, 8H) ppm.

Beispiel 6

6-(2,3-Dichlorbenzyl)-1-cyclopentyl-1,5-dihydro-4H-pyrazolo[3,4-d]pyrimidin-4-on



5

Analog zu Beispiel 1 wird das Produkt ausgehend von 150 mg (0,76 mmol) 5-Amino-1-cyclopentyl-1H-pyrazol-4-carboxamid und 406 mg (1,82 mmol) (2,3-Dichlorphenyl)essigsäuremethylester erhalten.

Ausbeute: 114 mg (41 % d.Th.)

10

MS (ESI): $m/z = 363$ ($M+H$)⁺

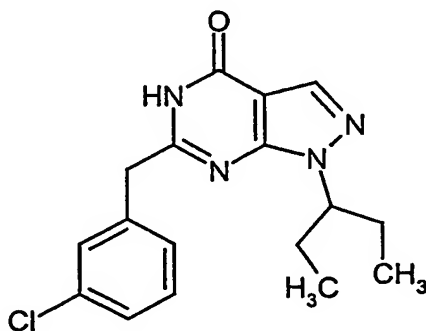
Smp.: 181°C

¹H-NMR (200 MHz, DMSO-d₆): $\delta = 12.35$ (s, 1H), 8.0 (s, 1H), 7.6 (m, 1H), 7.4-7.3 (m, 2H), 4.9 (m, 1H), 4.2 (s, 2H), 2.1-1.5 (m, 8H) ppm.

15

Beispiel 7

6-(3-Chlorbenzyl)-1-(1-ethylpropyl)-1,5-dihydro-4H-pyrazolo[3,4-d]pyrimidin-4-on



Analog zu Beispiel 1 wird das Produkt ausgehend von 150 mg (0,76 mmol) 5-Amino-1-(1-ethylpropyl)-1H-pyrazol-4-carboxamid und 484 mg (2,29 mmol) (3-Chlorphenyl)essigsäureethylester erhalten.

Ausbeute: 210 mg (83 % d.Th.)

5 MS (ESI): $m/z = 331$ ($M+H$)⁺

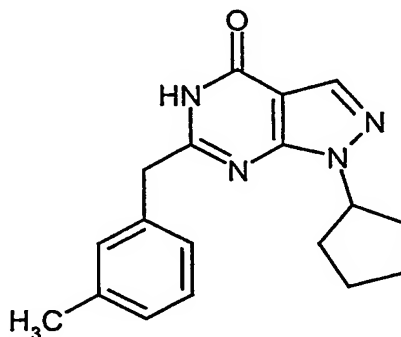
Smp.: 138°C

¹H-NMR (200 MHz, DMSO-d₆): $\delta = 12.3$ (s, 1H), 8.0 (s, 1H), 7.45-7.25 (m, 4H), 4.45 (m, 1H), 4.0 (s, 2H), 2.0-1.7 (m, 4H), 0.6 (t, 6H, $J = 7.5$ Hz) ppm.

10

Beispiel 8

6-(3-Methylbenzyl)-1-cyclopentyl-1,5-dihydro-4H-pyrazolo[3,4-d]pyrimidin-4-on



15

Analog zu Beispiel 1 wird das Produkt ausgehend von 200 mg (1,01 mmol) 5-Amino-1-cyclopentyl-1H-pyrazol-4-carboxamid und 550 mg (3,03 mmol) (3-Methylphenyl)essigsäureethylester erhalten.

Ausbeute: 222 mg (71 % d.Th.)

20 MS (ESI): $m/z = 309$ ($M+H$)⁺

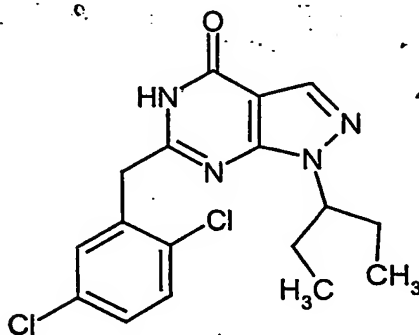
Smp.: 152°C

¹H-NMR (200 MHz, DMSO-d₆): $\delta = 12.2$ (s, 1H), 8.0 (s, 1H), 7.3-7.0 (m, 4H), 5.1 (m, 1H), 3.95 (s, 2H), 2.3 (s, 3H), 2.2-1.55 (m, 8H) ppm.

25

Beispiel 9

6-(2,5-Dichlorbenzyl)-1-(1-ethylpropyl)-1,5-dihydro-4H-pyrazolo[3,4-d]pyrimidin-4-on



Analog zu Beispiel 1 wird das Produkt ausgehend von 200 mg (1,0 mmol) 5-Amino-1-(1-ethylpropyl)-1H-pyrazol-4-carboxamid und 806 mg (3,5 mmol) (2,5-Dichlorphenyl)essigsäuremethylester erhalten.

10 Ausbeute: 51 mg (14 % d.Th.)

MS (ESI): $m/z = 365$ ($M+H$)⁺

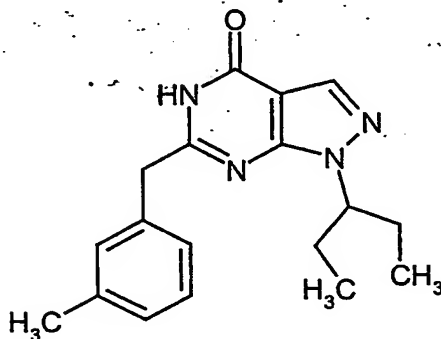
Smp.: 134°C

¹H-NMR (300 MHz, DMSO-d₆): $\delta = 12.3$ (s, 1H), 8.0 (s, 1H), 7.55-7.35 (m, 3H), 4.2 (m, 1H), 4.15 (s, 2H), 1.9-1.65 (m, 4H), 0.55 (t, 6H, $J = 7.5$ Hz) ppm.

15

Beispiel 10

6-(3-Methylbenzyl)-1-(1-ethylpropyl)-1,5-dihydro-4H-pyrazolo[3,4-d]pyrimidin-4-on



5

Analog zu Beispiel 1 wird das Produkt ausgehend von 200 mg (1,0 mmol) 5-Amino-1-(1-ethylpropyl)-1H-pyrazol-4-carboxamid und 534 mg (3,0 mmol) (3-Methylphenyl)essigsäureethylester erhalten.

Ausbeute: 187 mg (60 % d.Th.)

10

MS (ESI): $m/z = 311$ ($M+H$)⁺

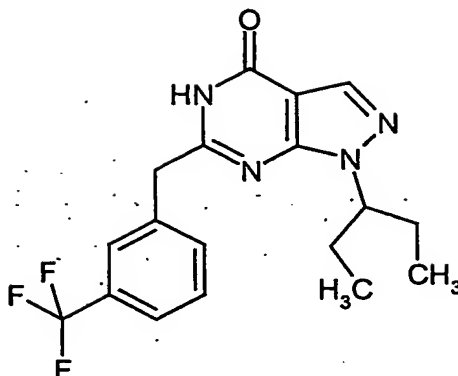
Smp.: 128°C

¹H-NMR (200 MHz, DMSO-d₆): $\delta = 12.25$ (s, 1H), 8.0 (s, 1H), 7.25-7.0 (m, 4H), 4.5 (m, 1H), 3.95 (s, 2H), 2.25 (s, 3H), 2.0-1.7 (m, 4H), 0.6 (t, 6H, $J = 7.5$ Hz) ppm.

15

Beispiel 11

1-(1-Ethylpropyl)-6-[3-(trifluormethyl)benzyl]-1,5-dihydro-4H-pyrazolo[3,4-d]pyrimidin-4-on



Analog zu Beispiel 1 wird das Produkt ausgehend von 150 mg (0,75 mmol) 5-Amino-1-(1-ethylpropyl)-1H-pyrazol-4-carboxamid und 490 mg (2,25 mmol) (3-Trifluormethylphenyl)essigsäuremethylester erhalten.

Ausbeute: 159 mg (58 % d.Th.)

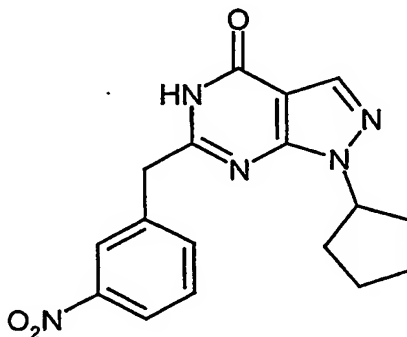
MS (ESI): $m/z = 365$ ($M+H$)⁺

Smp.: 120°C

¹H-NMR (400 MHz, DMSO-d₆): $\delta = 12.3$ (s, 1H), 8.0 (s, 1H), 7.7 (s, 1H), 7.7-7.5 (m, 3H), 4.4 (m, 1H), 4.1 (s, 2H), 1.95-1.75 (m, 4H), 0.6 (t, 6H, $J = 7.5$ Hz) ppm.

Beispiel 12

1-Cyclopentyl-6-(3-nitrobenzyl)-1,5-dihydro-4H-pyrazolo[3,4-d]pyrimidin-4-on



Analog zu Beispiel 1 wird das Produkt ausgehend von 668 mg (3,44 mmol) 5-Amino-1-cyclopentyl-1H-pyrazol-4-carboxamid und 3,5 g (13,7 mmol) 3-Nitrophenyllessigsäureethylester erhalten.

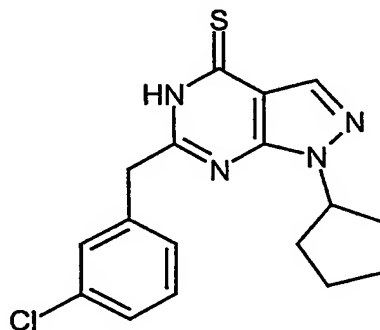
Ausbeute: 10 mg (1 % d.Th.)

MS (ESI): $m/z = 340$ ($M+H$)⁺

¹H-NMR (300 MHz, DMSO-d₆): $\delta = 12.3$ (s, 1H), 8.3 (s, 1H), 8.15 (m, 1H), 8.0 (s, 1H), 7.8 (d, 1H, $J = 8$ Hz), 7.6 (t, 1H, $J = 8$ Hz), 5.0 (m, 1H), 4.15 (s, 2H), 2.1-1.6 (m, 8H).

Beispiel 13

6-(3-Chlorbenzyl)-1-cyclopentyl-1,5-dihydro-4H-pyrazolo[3,4-d]pyrimidin-4-thion



Eine Lösung von 50 mg (0,15 mmol) 6-(3-Chlorbenzyl)-1-cyclopentyl-1,5-dihydro-4H-pyrazolo[3,4-d]pyrimidin-4-on (Beispiel 1) in 1 ml Pyridin wird bei Raumtemperatur mit 50 mg (0,23 mmol, 1.5 equiv.) Diphosphorpentasulfid versetzt und anschließend über Nacht unter Rückfluß gerührt. Nach dem Abkühlen wird die Reaktionslösung mit 10 ml eiskalter 2,5%-iger Natriumhydrogencarbonat-Lösung versetzt und dreimal mit Essigsäureethylester extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden mit gesättigter Kochsalzlösung gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und im Vakuum eingeeengt. Das Rohprodukt wird über präparative HPLC gereinigt.

Ausbeute: 36 mg (68% d.Th.)

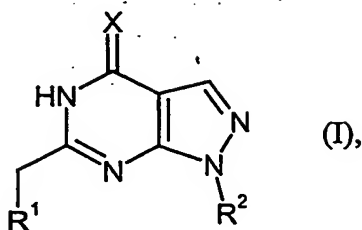
MS (ESI): $m/z = 345$ ($M+H$)⁺

Smp.: 154°C

¹H-NMR (300 MHz, DMSO-d₆): $\delta = 13.6$ (s, 1H), 8.15 (s, 1H), 7.5 (s, 1H), 7.4-7.25 (m, 3H), 5.05 (m, 1H), 4.1 (s, 2H), 2.1-1.6 (m, 8H).

Patentansprüche

1. Verbindungen der Formel



in welcher

R¹ Phenyl, welches mit 1 bis 5 Substituenten unabhängig voneinander ausgewählt aus der Gruppe Halogen, C₁-C₆-Alkyl, Trifluormethyl, Trifluormethoxy, Cyano, Hydroxy, Nitro und C₁-C₆-Alkoxy substituiert ist,

R² Pentan-3-yl, C₄-C₆-Cycloalkyl,

X Sauerstoff oder Schwefel,

bedeuten,

sowie deren Salze, Solvate und/oder Solvate der Salze.

2. Verbindungen nach Anspruch 1, wobei

R¹ Phenyl, welches mit 1 bis 3 Substituenten unabhängig voneinander ausgewählt aus der Gruppe Fluor, Chlor, Brom, C₁-C₄-Alkyl, Trifluormethyl, Trifluormethoxy, Cyano, Hydroxy, Nitro und C₁-C₄-Alkoxy substituiert ist,

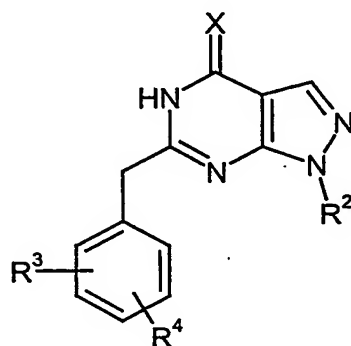
R^2 Pentan-3-yl, C_5 - C_6 -Cycloalkyl,

X Sauerstoff oder Schwefel,

bedeuten,

sowie deren Salze, Solvate und/oder Solvate der Salze.

3. Verbindungen nach Ansprüchen 1 und 2 der Formel



(Ia),

in welcher

R^3 Wasserstoff oder Chlor,

R^4 Fluor, Chlor, Brom, Methyl, Trifluormethyl,

R^2 Pentan-3-yl, Cyclopentyl,

X Sauerstoff oder Schwefel,

bedeuten,

sowie deren Salze, Solvate und/oder Solvate der Salze.

4. Verbindungen nach Ansprüchen 1 bis 3 der Formel (Ia), wobei

R^3 Wasserstoff oder Chlor,

R^4 Fluor, Chlor, Brom, Methyl, Trifluormethyl,

R^2 Pentan-3-yl, Cyclopentyl,

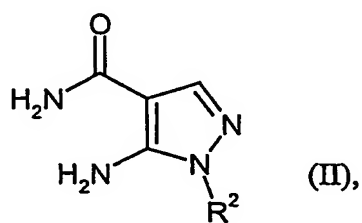
X Sauerstoff,

bedeuten,

sowie deren Salze, Solvate und/oder Solvate der Salze.

5. Verfahren zur Herstellung von Verbindungen nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass man

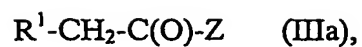
[A] Verbindungen der Formel



in welcher

R^2 die oben angegebenen Bedeutungen hat,

durch Umsetzung mit einer Verbindung der Formel



in welcher

5.

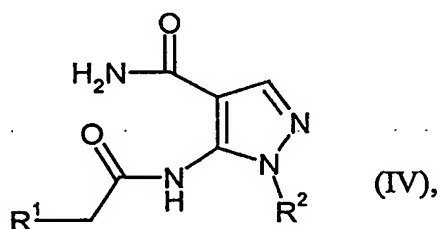
R^1 die oben angegebenen Bedeutungen hat

und

Z für Chlor oder Brom steht,

10

zunächst in Gegenwart einer Base in Verbindungen der Formel



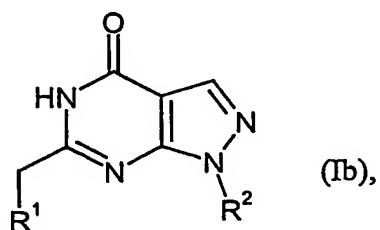
15

in welcher

R^1 und R^2 die oben angegebenen Bedeutungen haben,

überführt, dann in Gegenwart einer Base zu Verbindungen der Formel

20



in welcher

R^1 und R^2 die oben angegebenen Bedeutungen haben,

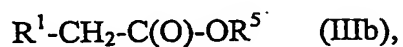
cyclisiert,

5

oder

[B] Verbindungen der Formel (II) unter direkter Cyclisierung zu (Ib) mit einer Verbindung der Formel

10



in welcher

15

R^1 die oben angegebenen Bedeutungen hat

und

R^5 für Methyl oder Ethyl steht,

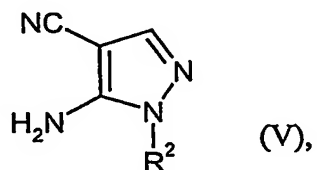
20

in Gegenwart einer Base umsetzt,

oder

25

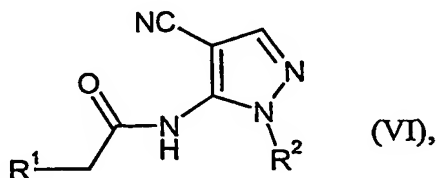
[C] Verbindungen der Formel



in welcher

R^2 die oben angegebenen Bedeutungen hat,

zunächst durch Umsetzung mit einer Verbindung der Formel (IIIa) in Gegenwart einer Base in Verbindungen der Formel



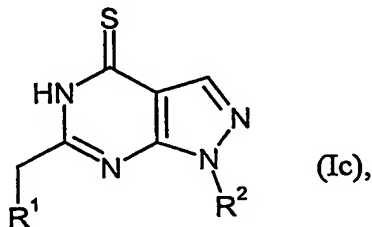
in welcher

R^1 und R^2 die oben angegebenen Bedeutungen haben,

überführt,

und diese in einem zweiten Schritt in Gegenwart einer Base und eines Oxidationsmittels zu (Ib) cyclisiert,

und die Verbindungen der Formel (Ib) gegebenenfalls dann durch Umsetzung mit einem Schwefelungsmittel wie beispielsweise Diphosphorpentasulfid in die Thiono-Derivate der Formel



in welcher

R^1 und R^2 die oben angegebenen Bedeutungen haben,

überführt,

und die resultierenden Verbindungen der Formel (I) gegebenenfalls mit den entsprechenden (i) Lösungsmitteln und/oder (ii) Basen oder Säuren zu ihren Solvaten, Salzen und/oder Solvaten der Salze umsetzt.

6. Verbindungen nach einem der Ansprüche 1 bis 4 zur Behandlung und/oder Prophylaxe von Krankheiten.
7. Arzneimittel enthaltend mindestens eine der Verbindungen nach einem der Ansprüche 1 bis 4 und mindestens einen pharmazeutisch verträglichen, im wesentlichen nichtgiftigen Träger oder Exzipienten.
8. Verwendung der Verbindungen nach einem der Ansprüche 1 bis 4 zur Herstellung eines Arzneimittels zur Prophylaxe und/oder Behandlung von Störungen der Wahrnehmung, Konzentrationsleistung, Lern- und/oder Gedächtnisleistung.
9. Verwendung nach Anspruch 8, wobei die Störung eine Folge der Alzheimer'schen Krankheit ist.
10. Verwendung der Verbindungen nach einem der Ansprüche 1 bis 4 zur Herstellung eines Arzneimittels zur Verbesserung der Wahrnehmung, Konzentrationsleistung, Lern- und/oder Gedächtnisleistung.
11. Verfahren zur Bekämpfung von Störungen der Wahrnehmung, Konzentrationsleistung, Lern- und/oder Gedächtnisleistung in Mensch oder Tier durch

Verabreichung einer wirksamen Menge der Verbindungen aus Ansprüchen 1 bis 4.

12. Verfahren nach Anspruch 11 wobei die Störung eine Folge der Alzheimer'schen Krankheit ist.

Phenyl-substituierte Pyrazolpyrimidine

Zusammenfassung

Die Erfindung betrifft neue Phenyl-substituierte Pyrazolpyrimidine, Verfahren zu ihrer Herstellung, und ihre Verwendung zur Herstellung von Arzneimitteln zur Verbesserung von Wahrnehmung, Konzentrationsleistung, Lern- und/oder Gedächtnisleistung.